

# دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکترای تخصصی (Ph.D) انگل شناسی پزشکی

عنوان:

بررسی اختلالات پاتولوژیک، رفتاری و پاسخ های ایمنی در آلزایمر القاء شده در  
موش بालب سی آلوده به انگل توکسوپلاسما گوندی

توسط: حسین محمودوند

اساتید راهنما:

دکتر ناصر ضیاعلی

دکتر وحید شیبانی

اساتید مشاور:

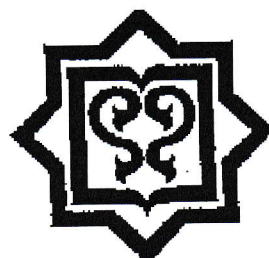
دکتر حمید دانشور

دکتر محمد شعبانی

دکتر شهریار دبیری

سال تحصیلی:

۹۵-۹۶



**Kerman University of Medical Sciences**

**Faculty of Medicine**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Ph.D

**Title:**

**Evaluation of immune responses, pathological and behavioral disorders  
in induced Alzheimer in Balb/c mice with *Toxoplasma gondii* infection**

**By:**

Hossein Mahmoudvand

**Supervisors:**

Dr. Naser Ziaali

Prof. Vahid Sheibani

**Advisors:**

Dr. Hamid Daneshvar

Dr. Mohammad Shabani

Dr. Shahriar Dabiri

**Year:**

2015



**مقدمه و اهداف:** توکسوپلاسموز بیماری است که بر اثر عفونت با نوعی انگل تک یاخته ای داخل سلولی به نام توکسوپلازما گوندی بوجود می آید. تاکنون در مطالعات متعددی ارتباط بین توکسوپلاسموز و برخی از بیماری های نورودژنراتیو به اثبات رسیده است. مطالعه حاضر به منظور بررسی ارتباط بین التهاب نورونی ایجاد شده بوسیله عفونت توکسوپلاسموزیس از طریق سیتوکین ها و دیگر پاسخ های ایمنی و ایجاد آلزایمر در حیوان آزمایشگاهی (موش بальب سی) می باشد.

**روش ها:** مدل حیوانی توکسوپلاسموزیس به وسیله تلقیح داخل صفاقی ۲۵-۲۰ کیست نسجی انگل توکسوپلازما گوندی سویه تهران ایجاد گردید. همچنین مدل حیوانی آلزایمر از طریق تزریق داخل هیپوکمپی بتا آمیلوئید ۱-۴۲ (۱ و ۲ میکروگرم در هر میکرولیتر) ایجاد گردید. آزمون های رفتاری مانند یادگیری و حافظه از طریق تست ماز آبی موریس انجام گردید. علاوه بر این سطوح برخی سیتوکین های ایمنی مانند TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 بوسیله Real-time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین حضور کیست های نسجی، پلاک های آمیلوئید و برخی تغییرات پاتولوژی نیز با روش های رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین و کنگو رد مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که عفونت توکسوپلاسموزیس به طور قابل ملاحظه ای باعث ایجاد اختلال در یادگیری و حافظه حیوان می گردد به طور که در ترکیب با دوز پایین بتا آمیلوئید علائمی مشابه با بیماری آلزایمر از خود نشان می دهد. در آزمون های مولکولی، میزان بیان سیتوکین های مورد مطالعه به طور معنی داری در گروه موش های آلوده به توکسوپلاسموز که دوز پایین بتا آمیلوئید دریافت کرده بودند به طور معنی داری در مقایسه با گروه های دیگر افزایش پیدا کرده بودند. در رنگ آمیزی هماتوکسیلین علاوه بر حضور کیست در ناحیه هیپوکمپ، ارتشاح سلول های التهابی بخصوص سلول های تک هسته ای مشاهده گردید همچنین در رنگ آمیزی کنگو رد حضور پلاک های آمیلوئید و همچنین کاهش و دژنراسیون نورون ها مشاهده گردید.

**نتیجه گیری:** نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که عفونت توکسوپلاسموزیس هم از طریق پاسخ های ایمنی و ایجاد التهاب نورونی و هم از طریق مستقیم (حضور کیست نسجی) میتواند بر روی عملکرد رفتاری و همچنین در پیشرفت بیماری آلزایمر نقش داشته باشد.

**کلمات کلیدی:** توکسوپلاسموزیس، بتا آمیلوئید، سیتوکین، حافظه و یادگیری، Real-time PCR

## Abstract

**Aims:** Here, we hypothesized that in chronic *Toxoplasma gondii* infection communication among immune cells promotes neuroinflammation through cytokine networks and potentiate cognitive impairments in BALB/c mice with Alzheimer's disease (AD).

**Methods:** The animal model of *Toxoplasma* infection was established by the intraperitoneal inoculation of 20-25 tissue cysts from Tehran strain of *T. gondii*. We injected amyloid-beta 1-42 peptide ( $A\beta_{1-42}$ , 1 and 2  $\mu$ L) into the hippocampus of BALB/c mice to establish an animal model of AD. The behavioral experiments such as spatial learning and memory were performed using Morris water maze test. The mRNA levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-6 was examined by real-time PCR. To confirm the presence of *T. gondii* cysts and any pathological changes, especially in the hippocampal CA1, the left hemispheres were examined with hematoxylin-eosin (H&E) to and congo red staining.

**Results:** We found that *T. gondii* infection caused AD-like symptoms and impaired learning and memory functions of the infected BALB/c mice. We also found that in *Toxoplasma* infection +  $A\beta_{1-42}$  (1  $\mu$ L) group, *T. gondii* infection could potentiates AD in infected mice receiving sub-dose of  $A\beta_{1-42}$  (1  $\mu$ L) and caused considerable impairment in learning and memory functions similar to AD group. Comparison of the results demonstrated that mRNA levels of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and also iNOs significantly ( $P < 0.001$ ) increased in *T. gondii* +  $A\beta_{1-42}$  (1  $\mu$ L) in comparison with the control and sham groups.

**Conclusion:** The obtained results showed that chronic *T. gondii* infection communication among immune cells promotes neuroinflammation through cytokine networks and induce pathological progression of AD in the mice brain, whereas, neuroanatomical *Toxoplasma* tissue cysts presence in the brain could also affect the behavioral functions in *T. gondii* infected mice.

**Keywords:** Toxoplasmosis; amyloid-beta; cytokine; Real-time PCR; learning and memory